中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 49(4): 39～47 (2000)

湖北貝母組織培養之研究

III. 培養基組成分及光照處理對誘導小鱗莖發根之影響[1]

陳威臣[2] 戴宗德[3] 陳忠川[3] 蔡新聲[2]

摘要：貝母(Bei-Mu)首載於神農本草經、草部中品，為傳統中醫藥用植物，依藥用習慣分為浙貝母和川貝母兩大類。浙貝母苦寒，多用於外感咳嗽；川貝母苦甘微寒，多用於虛勞咳嗽。在湖北西部和四川東部所發展的湖北貝母(*Fritillaria hupehensis* Hsiao *et* K. C. Hsia)，屬川貝母之一種。湖北貝母具止咳化痰之療效，歷年來均採鱗莖繁殖播種，但繁殖速率低、產量少，不能滿足醫療之需。本研究乃探討利用組織培養大量繁殖湖北貝母種苗之技術。將培養湖北貝母鱗片所獲得之小鱗莖，繼代培養在不同濃度的NAA培養基中，結果發現4 mg/l NAA (α-naphthaleneacetic acid)誘導小鱗莖發根之比率最高，可達63.3%，隨NAA濃度降低而小鱗莖發根比率漸少；每個小鱗莖之發根數目則以2 mg/l NAA較佳。將小鱗莖培養在1/2 MS基本鹽類濃度、3%蔗糖，配合0.5 mg/l BA (N^6-benzyladenine)及4 mg/l NAA之固體培養基中，於光照16小時/日、2,000 lux光強度，25℃恆溫的條件下培養60天後，約65%之鱗莖可得良好根系。將形成良好根系之小鱗莖移出試管，栽培於土壤、泥炭苔與河砂(v/v/v=2/1/1)之混合介質，置於生長箱內進行馴化，一個月後之植株成活率可達90%。

關鍵詞：湖北貝母、藥用植物、組織培養、瓶內發根、馴化。

前　言

貝母(Bei-Mu)為百合科多年生之草本植物，以地下鱗莖入藥，有止咳、化痰、清熱及散結之功用，乃常用中醫藥用植物。依藥用習慣貝母又分為浙貝母(*Fritillaria thunbergii* Miquel. Baker)和川貝母(*F. cirrhosa* D. Don)兩大類，浙貝母主產於浙江，多係人工栽培；川貝母主產於中國西南與西北地區，多係野生。浙貝母與川貝母均為止咳化痰藥，但浙貝母苦寒，多用於外感咳嗽；川貝母苦甘微寒，多用於虛勞咳嗽；臨床上分別應用[2,7,28,31]。在湖北西部和四川東部所發展的湖北貝母(*F. hupehensis* Hsiao *et* K. C. Hsia)，又名板貝母，應屬川貝母之一種，性微寒、味甘苦，具有潤肺、止咳、化痰，治虛勞、咳嗽痰鬱、胸悶肺痿等功效[7,10,13]。

貝母一般採用鱗莖繁殖栽培，但其繁殖率低、產量少，若以種子播種栽培，又需4-5年之生長週期，因此造成藥品嚴重缺乏，無法滿足醫療所需。為解決貝母藥材之嚴重不足，許多前人研究指出，利用組織培養技術可成功大量繁殖貝母屬植物；如江蘇省植物研究所(1978)與郝(1982)等學者指出，利

---

1 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第2043號。

2 本所農藝系助理研究員與研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

3 中國醫藥學院藥學研究所前研究生、副教授。臺灣省　臺中市。

用伊貝母(*F. pallidiflorae*)鱗莖切塊來源[3]或頂芽來源[6]之癒合組織，可誘導植物體再生；孫(1977)等學者利用浙貝母(*F. thunbergii* Miquel)花梗及花蕾來源之癒合組織，亦可誘導產生植物體[5]；周(1983)與趙(1983)等學者分別利用平貝母(*F. ussuriensis* Maxim)之鱗莖來源[4]或花梗及花蕾來源來源[11]之癒合組織，可誘導植物體再生；蕭(2000)等學者利用組織培養技術，誘導湖北貝母之鱗片產生芽球類似體、小鱗莖及胚狀化癒合組織之形成[13]；楊(2000)等學者則大量增殖此湖北貝母之芽球類似體、小鱗莖與胚狀化癒合組織，並使其再生爲植物體[10]；本研究進一步檢討培養基組成分及光照處理對湖北貝母小鱗莖發根之影響，並探討栽培介質組成分對幼苗移植成活的影響，期能發展大量生產湖北貝母植株或鱗莖之技術，供農民大量栽培時之應用，以滿足醫療之需。

材料與方法

一、材料

本研究材料係取自四川中醫學院副院長提供之湖北貝母鱗片，經培養後形成具有小鱗莖之芽球相似體(Protocorm-like-body, PLB)，再切取含2-3個小鱗片之芽球相似體，培養於添加0.5 mg/l BA與1 mg/l NAA之MS固體培養基，待長成具莖葉之小鱗莖時，供試驗之用。

二、方法

(一)培養基與培養條件

本研究主要以MS無機鹽類及有機成分爲基本配方[22]，內含3%蔗糖及0.9%洋菜，並添加各類植物生長調節劑，培養基加入洋菜前先用1N NaOH及HCl將pH值調至5.7±0.1，然後以121℃、1.05 kg/cm^{2}高壓滅菌15分鐘後，放冷備用。接種後將材料置於25±1℃之恆溫、照光16小時(光強度約2,000 lux)下培養。

(二)培養基組成分與光照處理對誘導小鱗莖發根之影響

將帶有莖與葉之湖北貝母小鱗莖，培養於不同濃度之MS鹽類、蔗糖或NAA等不同組成分之培養基，探討上述因子對湖北貝母小鱗莖形成根之影響。此外，將湖北貝母小鱗莖培養於含有4 mg/l NAA、0.5 mg/l BA之1/2 MS培養基，分別置於暗處理、照光處理(每日照光16小時，光強度約2,000 lux)及部份遮光處理(以鋁箔紙包圍試管之培養基部份，僅露出鱗片；每日照光16小時，光強約2,000 lux)等三種光照環境，探討光照處理對湖北貝母鱗莖形成根之影響。本研究NAA濃度與光照試驗均接種30個培植體，而MS與蔗糖濃度試驗則接種20個培植體，於接種30與60天後調查其發根培植體數與每個培植體之發根數。

(三)栽培介質組成分對移植成活率之影響

待小鱗莖形成較佳之根系後(圖1a)，取出以自來水洗淨附著之培養基，並用0.1% (w/v)億力(Benlate, Du Pont, De Nemours & Co. Inc. Taoyuan, Taiwan)消毒5-10分鐘後，移植於經滅菌之土壤(取自本所田區之田土)、泥炭苔(HECO No. 1, Produit par heveco LTD., Tabusinto, N. B., Canada.)、河砂及蛭石(南海蛭石3號)等植材不同混合比例的栽培介質中，將材料移植於直徑9 cm之黑色塑膠盆中，置於日夜溫爲20℃/16℃且照光16小時之生長箱內，每天澆水以維持溼度，且每二天噴一次0.1% (w/v)花寶一號(HYPONeX No.1，N：P：K＝7：6：19)；移植7天後移出生長箱，每二天澆水並噴施0.1%花寶一號一次；本試驗移植20個小鱗莖，於移植30天後調查存活率。

(四)資料分析

本研究所有試驗均爲二重複，試驗所得部分資料係採用二項分布(binomial distribution)之95%信賴區間(confidence interval)表示，以顯示處理間之差異；部分資料則利用SAS統計軟體進行變方分析，若處理間差異顯著，則利用Least significant difference (LSD) test測定比較各處理平均值間之差異。

結果

一、NAA濃度對湖北貝母小鱗莖發根之影響

表1的結果顯示，4 mg/l NAA之處理對小鱗莖發根的比率最佳，達63.3%，平均根數為3.1條；其次為2 mg/l之處理，分別為50.0%及3.4條；降低NAA濃度為1或0.5 mg/l時，其根之形成率分別降為41.7%及23.3%，而形成之根數則不受太大影響，分別可達3.3與3.1條；而0.25 mg/l NAA與不含NAA之處理較差，根形成率與根數分別只有21.7%與13.3%及2.5與1.3條。

表1. NAA濃度對湖北貝母小鱗莖發根之影響

Table 1. Influence of NAA concentration on rooting of *F. hupehensis* bulblets after 2 months cultured in MS basal medium+0.5 mg/l BA

NAA concentration (mg / l)	% Bulblets producing roots [z]	Average No. of roots per bulblet [y]
0	13.3 (11.6-15.0)	1.3[d]
0.25	21.7 (19.1-24.2)	2.5[d]
0.5	23.3 (21.6-25.0)	3.1[abc]
1	41.7 (40.8-42.5)	3.3[abc]
2	50.0 (48.3-51.7)	3.4[ab]
4	63.3 (60.0-66.7)	3.1[bc]

[z] Values in parentheses are 95% confidence interval of binomial distribution.

[y] Means within a column followed by same letter are not significantly different from each other at the 5% level by LSD test.

二、MS基本鹽類對湖北貝母小鱗莖發根之影響

表2的結果顯示，1/2 MS基本鹽類濃度對湖北貝母小鱗莖誘導發根的效果最佳，根形成率及根數分別為65.0%及3.5條；其次為MS之處理，分別為52.5%及3.3條；降低鹽類濃度至1/4或1/8 MS時，使發根率及根數分別降為42.5%及3.1條與37.5%及2.8條。

表2. MS基本鹽類濃度對湖北貝母小鱗莖發根之影響

Table 2. Influence of the strength of MS basal medium supplemented with 4 mg/l NAA+0.5 mg/l BA on rooting of *F. hupehensis* bulblets after 2 months of culture

MS salts concentration (Fold)	% Bulblets producing roots [z]	Average No. of roots per bulblet [y]
1/8	37.5 (32.9-42.1)	2.8[bc]
1/4	42.5 (41.0-44.0)	3.1[abc]
1/2	65.0 (61.9-68.1)	3.5[abc]
1	52.5 (47.9-57.1)	3.3[abc]

[z] Values in parentheses are 95% confidence interval of binomial distribution.

[y] Means within a column followed by same letter are not significantly different from each other at the 5% level by LSD test.

三、蔗糖濃度對湖北貝母小鱗莖發根之影響

表3的結果顯示，3%蔗糖濃度對根形成率最佳，達67.5%，形成根數為3.3條；其次為5%之處理，分別為62.5%及3.2條；提高或降低蔗糖濃度為7%或1%時，均有57.5%之根形成率，而形成之根數分別為2.9與2.8條；將小鱗莖培養於不含蔗糖之培養基時，根形成率與形成之根數則分別為55.0%及3.0條。

表3. 蔗糖濃度對湖北貝母小鱗莖發根之影響

Table 3. Influence of sucrose concentration on rooting of *F. hupehensis* bulblets after 2 months of culture in 1/2 MS medium supplemented with 4 mg/l NAA+0.5 mg/l BA

Sucrose (%)	% Bulblets producing roots [z]	Average No. of roots per bulblet [y]
0	55.0 (51.9-58.1)	3.0[abcde]
1	57.5 (49.8-65.2)	2.8[bcde]
3	67.5 (62.9-72.1)	3.3[abcd]
5	62.5 (57.9-67.1)	3.2[abcd]
7	57.5 (56.0-59.0)	2.9[bcde]

[z] Values in parentheses are 95% confidence interval of binomial distribution.

[y] Means within a column followed by same letter are not significantly different from each other at the 5% level by LSD test.

表4. 不同光照處理對湖北貝母小鱗莖發根之影響

Table 4. Influence of light intensity on rooting of *F. hupehensis* bulblets after 2 months of culture in 1/2 MS basal medium supplemented with 4 mg/l NAA+0.5 mg/l BA

Light intensity (lux)	% Bulblets producing roots [y]	Average No. of roots per bulblet [x]
0 (darkness)	68.3 (65.8-70.9)	3.3[b]
2000	65.0 (60.8-69.2)	3.8[a]
2000 [z]	63.3 (61.6-65.0)	2.9[c]

[z] Outside of test-tube was covered with aluminum foil.

[y] Values in parentheses are 95% confidence interval of binomial distribution.

[x] Means within a column followed by same letter are not significantly different from each other at the 5% level by LSD test.

表5. 不同混合介質對湖北貝母瓶苗移植成活率之影響

Table 5. Influence of growing medium-mixture on survival of *F. hupehensis* bulblets after cultured in growth chamber for 1 month

Growing medium-mixture components [z]				Bulblets survival [y]
Soil	Vermiculite	Peat-moss	Sand%	
2	0	1	1	90.0 (86.9-93.1)
2	1	1	0	82.5 (81.0-84.0)
2	0	0	1	77.5 (72.9-82.1)
1	0	0	0	77.5 (76.0-79.0)
1	1	1	0	82.5 (77.9-87.1)

[z] Growing medium-mixture components were mixed by volume.

[y] Values in parentheses are 95% confidence interval of binomial distribution.

四、不同光照處理對湖北貝母小鱗莖發根之影響

表4的結果顯示，培養60天後，暗處理者約有68.3%之根形成率，平均獲得3.3條根，但根較細；2,000 lux光照下約有65.0%之根形成率，平均獲得約3.8條根(圖1a)；而培養基經遮光處理之小鱗莖則約有63.3%之根形成率，其根較光照處理者細，且根數最少，為2.9條。

五、不同混合介質對湖北貝母瓶苗移植成活率之影響

表5的結果顯示，栽培介質採用土壤：泥炭苔：河砂 (v/v/v=2/1/1)時，組織培養瓶苗之移植成活率為90%，其他組合之栽培介質則分別有77.5%及82.5%之成活率。而馴化三個月後可得生育良好之湖北貝母小植株(圖1b)，可供移植田間栽培之用。

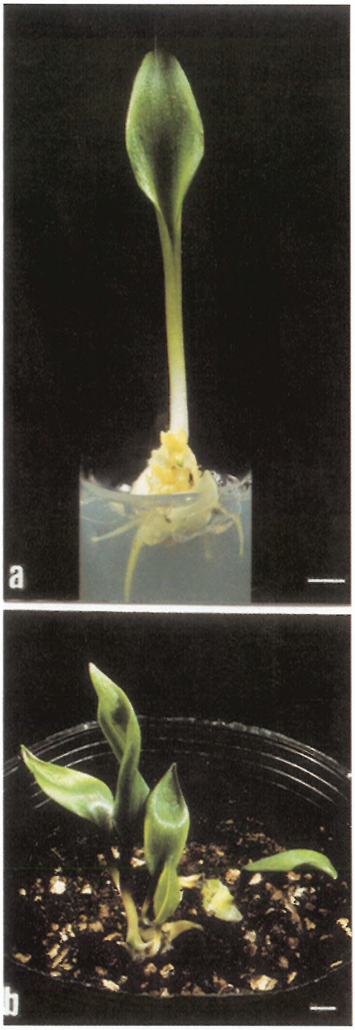

圖 1. 湖北貝母小鱗莖之(a)瓶內發根與(b)移植馴化後植株之生長情形。

Fig. 1. *In vitro* rooting and acclimatization of *F. hupehensis* bulblets. (a) Rooting of bulblets in 1/2 MS basal medium supplemented with 0.5 mg/l BA+4 mg/l NAA, under light intensity in 2,000 lux for 2 months. Bar, 5 mm. (b)*In vitro* propagated plantlets were transplanted to soil, peat moss, and sand (v/v/v=2/1/1), and cultured in growth chamber for 3 months. Bar, 5 mm.

討　論

組織培養大量繁殖之應用上，常添加 auxins 類植物生長調節劑(IAA 、 NAA 或 IBA)於培養基以誘導根部的形成，其中以 NAA 具有較佳的發根效果[15]。若培養基中不含 IBA 或 NAA ，則 *Azadirachta exxelsa* 芽體無法發根；當芽體培養於含有 2-4 mg/l NAA 之培養基時的發根率較高[19]。同樣的， *Vitex negundo* 之芽體培養於不含 auxin 之培養基時亦無法發根[26]。 Niimi (1984)則指出 NAA 爲影響 *Lilium rubellum* 小鱗莖發根之最主要因素[23]。 Lubomski (1989)於 *Hosta sieboldiana* 的組織培養研究中指出，

IAA與IBA均無法誘導其芽體發根，惟有0.1 mg/l NAA可得最佳之發根率；而不含任何植物生長調節劑之培養基亦可以得到不錯的結果[21]。Hussey (1977)也指出，將Amaryllidaceae、Liliaceae與Iridaceae等三科植物之芽體繼代培養於低濃度或不添加cytokinins的培養基時，可自然產生不定根[16]；鳳梨(*Ananas comosus*)芽體之發根試驗亦獲得相似的結果[18]。本研究結果顯示，4 mg/l NAA之處理對於湖北貝母小鱗莖之發根效果最佳，其餘之處理則隨著NAA濃度減低而發根率有降低之趨勢；而在形成的根數上，則0.5-4 mg/l NAA之處理間並無顯著差異；在添加0.25 mg/l NAA與不含NAA之處理時，約有20%之小鱗莖發根，而形成的根數則約有2條；此結果與上述報導之結果頗爲類似。

培養基中的高濃度鹽類往往會抑制培植體根系之分化，若將鹽類濃度減爲半量或1/4量則有利於組織培養瓶苗之發根[15]。Sengupta *et al.*(1984)指出，將誘導自山藥(*Dioscorea floribunda*)莖節或癒合組織再生之芽體，培養於含有0.5 mg/l NAA之1/2 MS液態培養基15-20天後，可形成發育良好之根系，且發根率可達90%[27]。Upreti and Dhar (1996)亦指出，添加1 μM NAA的1/2 MS培養基是*Bauhinia vahlii*瓶內發根時之最佳培養基[29]。張(2000)等學者於*Eucalyptus camaldulensis*之發根試驗中發現，添加0.1-2 mg/l IBA之1/2 MS培養基的發根率，均較添加0.1-2 mg/l IBA之MS培養基分別高出15-25%，甚至於不含IBA之1/2 MS處理亦較MS處理(不含IBA)高出20%[8]。本研究結果顯示，誘導湖北貝母小鱗莖之發根以1/2 MS之處理最爲適當，此結果與上述報導類似；但本研究將鹽類濃度降低至1/4或1/8 MS時，對根形成率及根數反而有不利之影響。

醣類爲培養基的主要碳源，在不少作物瓶苗的發根上是不可或缺的影響因子，其中果糖、蔗糖與葡萄糖較有助於瓶苗的發根作用[14,15]。然而，Piagnani and Eccher (1988)卻指出，蔗糖濃度並不會影響栗樹(*Chestnut sativa*與*C. crenata* X *C. sativa*)芽體的發根[24]。本研究將湖北貝母小鱗莖培養在不同蔗糖濃度之培養基中發現，3%蔗糖濃度對根形成率最佳，提高或降低蔗糖濃度對根形成率與形成根數均有不利之影響；此結果與Kooi et al. (1999)及Kumar *et al.* (1999)之研究結果[19,20]相同；顯示適當的蔗類濃度對湖北貝母小鱗莖的發根是有利的。

生長於土壤中之完整殖株，其根部的分化與生長現象均於黑暗的環境完成，然而在組織培養的條件下，照光是影響瓶苗發根的因子之一；此外，利用黑色膠帶包裹培養容器基部以進行遮光處理，亦有利於植物發根[15]。Niimi (1984)指出，照光處理可促進*Lilium rubellum*之發根[23]。玫瑰(*Rosa hybrida*)芽體於發根時之最佳光強度爲1,000 lux或更低，而當光強度高於3,000 lux時則發根受到抑制；於1,000 lux的光強度下，基部遮光處理之發根率較對照組高出24%[17]。本研究結果顯示，照光處理可促進湖北貝母小鱗莖的發根，但基部遮光處理卻有不利之影響，與上述報導不盡相同，值得進一步探討。

一般理想的栽培介質需具備有效水分含量適當、質輕(低密度)、高孔隙度、陽離子交換能力強、適當的酸鹼度(pH)與電導度(EC)、植物營養成分均衡、無毒性物質及無病蟲源等因子[12]。然而，並沒有一種完美的介質，在一樣的管理下，適合所有的植物生長，於是在利用任某種混合介質前，需先了解其個別的物理與化學性質[1,9]。但是筆者認爲，無法要求每個馴化試驗均需進行如此複雜之混合介質理化調查，但可依此報導評估選擇適當之介質(如土壤、河砂、泥炭苔、蛭石與珍珠石等)，依一定的比例加以混合，即可進行瓶苗移植之馴化試驗。Rani and Grover (1999)將已發根完成的*Withania somnifera*瓶苗移植於土與砂(v/v=1/1)的混合介質中，其移植存活率可達83%[25]。Yang *et al.* (2000)指出，將已發根完成的*Sassfras randaiense*瓶苗移植於蛭石與珍珠石(v/v=1/1)、泥炭苔與珍珠石(v/v=1/1)及蛭石、泥炭苔與珍珠石(v/v/v=1/1/1)的等三種混合介質中，其移植存活率均可高達100%[30]。本研究將具有健康根系之湖北貝母小苗，移植於滅菌後之不同混合介質一個月後發現，土壤、泥炭苔與河砂(v/v/v= 2/1/1)混合介質之處理效果最佳，小苗存活率可達90%，顯著優於其他的處理。

誌　　謝

本研究承行政院衛生署中醫藥委員會經費補助(CCMP86-RD-040)，農業試驗所李長沛先生協助資料分析，A. P. Sagare博士協助修正文稿英文部分，特此申謝。

引用文獻

1. 王才義。1990。栽培介質理化性質之測定。興大園藝 15：21-28。
2. 甘偉松。1986。藥用植物學(百合科)，第614-615頁。國立中國醫藥研究所。台灣，台北。699頁。
3. 江蘇省植物研究所(形態組)。1978。浙貝母鱗莖切塊的組織培養與繁殖。中草藥通訊 5：39-41。
4. 周寶鈞。1983。平貝母鱗莖組織培養的研究。植物生理學通訊 1：30。
5. 孫敬三、朱自清、王敬駒。1977。浙貝母癒傷組織的培養和器官再生。植物學報 19：161-162。
6. 郝玉蓉、李明世、吳躍武。1982。伊貝母(*Fritillarua pallidiforae*)癒傷組織的培養和植株再生的研究。西北植物研究 2：38-43。
7. 張平、姜術。1993。湖北貝母與浙貝母和川貝母中8種無機元素的含量比較。中國醫院藥學雜誌 13：348-349。
8. 張淑華、何政坤、蔡錦瑩、陳振榮。2000。Thidiazuron促進赤桉優良營養系葉片癒合組織之植株再生。台灣林業科學 15：81-90。
9. 黃淑如、王才義。1994。容器栽培介質含稻殼、泥炭苔、真珠石、土壤及砂之物理性與化學性。興大園藝 19：81-95。
10. 楊淑如、戴宗德、陳忠川、蔡新聲。2000。植物生長調節劑及培養基形態對湖北貝母鱗片培養衍生芽球相似體及鱗片增重之影響。中華農學會報(已接受)。
11. 趙國凡、曹陽、吳陽、范放、周麗君、楊偉華。1983。平貝母癒傷組織的誘導和器官再生。植物學通報 1：40-41。
12. 蔡宜峰、邱建中。1999。溫度及有機介質對不同草坪植物生長之影響中華民國雜草學會會刊 20：27-38。
13. 蕭翌柱、戴宗德、陳忠川、蔡新聲。2000。湖北貝母組織培養之研究 I.不同來源培植體誘導鱗片及胚狀化癒合組織之形成。中華農業研究 49(4): 29-38。
14. Gautheret, R. J. 1969. Investigations on the root formation in the tissues of *Helianthus tuberosus* cultured *in vitro*. Amer. J. Bot. 56: 702-717.
15. George, E. F., and P. D. Sherrington. 1984. Practices and Problems, pp. 358-367. in：Plant propagation by tissue culture：Handbook and dictionary of commercial laboratories. Eastern Press Reading, Berks. England. 709 pp.
16. Hussey, G. 1977. *In vitro* propagation of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. Acta Hortic. 78: 303-309.
17. Khosh-Khui, M., and K. C. Sink. 1982. Rooting enhancement of *Rosa Hybrida* for tissue culture propagation. Scientia Hortic. 17: 371-376.
18. Kiss, E., J. Kiss., G. Gyulai., and L. E. Heszky. 1995. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. HortScience 30: 127-129.
19. Kooi, L. T., L. K. Chan., and T. K. H. Chris. 1999. *In vitro* rooting of sentang shoots (*Azadirachta excelsa* L.) and acclimatization of the plantlets. In vitro cell. Dev. Biol. Plant 35: 396-400.
20. Kumar, A., A. Sood., L. M. S. Palni., and A. K. Gupta. 1999. *In vitro* propagation of *Gladiolus hybridus* Hort.：Synergistic effect of heat shock and sucrose on morphogenesis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 57: 105-112.
21. Lubomski, M. 1989. Shoots multiplication and rooting of Hosta *sieboldiana* cv. Gold standard using cultured shoot tips. Acta Hortic. 251: 223-228.
22. Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.
23. Niimi, Y. 1984. Effects of α-naphthaleneacetic acid and 6-benzylaminopurine on the development of excised-bulbs (*Lilium rubellum* Baker) cultured *in vitro* both in diffused light and in continuous darkness and the leaf emergence from the bulbs *in vivo*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 53(1): 59-65.

24. Piagnani, C., and T. Eccher. 1988. Factors affecting the proliferation and rooting of chestnut *in vitro*. Acta Hortic. 227: 384-386.

25. Rani, G., and I. S. Grover. 1999. *In vitro* callus induction and regeneration studies in *Withania somnifera*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 57: 23-27.

26. Sahoo, Y., and P. K. Chand. 1998. Micropropagation of *Vitex negundo* L., a woody aromatic medicinal shrub, through high-frequency axillary shoot proliferation. Plant Cell Rep. 18: 301-307.

27. Sengupta, J., G. C. Mitra., and A. K. Sharma. 1984. Organogenesis and tuberization in cultures of *Dioscorea floribunda*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 3: 325-331.

28. Stuart, R. G. A. 1987. Chinese medicine series (1) Chinese materia medica vegetable kingdom. pp. 178-179. Southern Materials Center, INC. Taipei, Taiwan. 558 pp.

29. Upreti, J. and U. Dhar. 1996. Micropropagation of *Bauhinia vahlii* Wight and Arnott--a leguminous liana. Plant Cell Rep. 16: 250-254.

30. Yang, J. C., J. Y. Tsay., J. D. Chung., and Z. Z. Chen. 2000. Multiple shoot proliferation and plantlet establishment in shoot tip and nodal culture of Taiwan sassafras (*Sassafras randaiense* (Hay.) Rehd.). Taiwan J. of For. Sci. 15: 31-39.

31. Yen, K. Y. 1992. Rhizomata (Rhizomes) p. 85. in：The illustrated Chinese materia medica - crude and prepared. SMC Publishing INC., Taipei, Taiwan. 383 pp.

Studies on the Tissue Culture of *Fritillaria hupehensis* Hsiao *et* K. C. Hsia

IIII. Influence of Medium Component and Light Treatment on *in vitro* Rooting, and Acclimatization of Bulblet [1]

Uei-Chin Chen [2], Chung-Der Tai [3], Chung-Chuan Chen [3], and Hsin-Sheng Tsay [2]

Summary

Bei-Mu (*Fritillaria hupehensis* Hsiao *et* K. C. Hsia) has been used as antitussive and expectorant in traditional Chinese medicine. As the amount of bulb collected from naturally-grown and traditionally-cultured plants is far from enough for medicinal demand, therefore the mass propagation method using bulblets of *F. hupehensis* has been established. α-Naphthaleneacetic acid (NAA) in concentration range of 2-4 mg/l could promote the root initiation of the bulblets. The bulblets cultured on medium containing 1/2 Murashige and Skoog (MS) medium, 3% sucrose, 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine (BA), and 4 mg/l NAA for 60 days, consequently, 65% bulblets could develop good root system. The in vitro propagated bulblets with well-developed roots could be transplanted to autoclaved soil, peat moss, and sand (v/v/v=2/1/1), and grown well in a growth chamber. The survival percentage of bulblets was 90% by one month of culture.

Key words：*Fritillaria hupehensis,* Medicinal plant, Tissue culture, *In vitro* rooting, Acclimatization.

---

1. Contribution No.2043 from Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture.
2. Assistant Researcher and Senior Agronomist, Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Former graduate student and Associate Professor of Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Science, China Medical College, Taichung, Taiwan, ROC.